

# 电感耦合等离子体质谱法检测人体尿液中微量元素含量及质量控制

黄胜 夏立凤 喻诗宇

上海歌特维医学检验所有限公司

**[摘要]**目的: 建立一种电感耦合等离子体质谱检测人体尿液中微量元素的方法, 并通过自制质控品评价该方法运行室内质控的可行性。方法: 采用5%硝酸(含200 ng/mL Au)作为稀释剂, 优化仪器条件后, 对尿液样本进行直接稀释测定, 并且按照CNAS-GL05《实验室内部研制质量控制样品的指南》自制质控对室内质控情况进行评价。结果: 该方法线性相关系数均大于0.99, 检出限0.0010~0.2236 ng/mL, 加标回收率86%~105%, 批内精密度0.4%~13.1%; 自制质控品均匀性RSD小于9.2%, 日间精密度小于14.8%。结论: 该方法具有快捷、灵敏、准确的优点, 适用于人体尿液中微量元素的检测, 自制质控品均匀性和稳定性良好, 适用于该方法的室内质控评价。

**[关键词]**电感耦合等离子体质谱法, 微量元素, 尿液, 质量控制

**【DOI】**10.12252/j.issn.2096-6261.2021.09.812

## 前言

尿液中重金属的含量是慢性职业中毒诊断的一个重要指标, 同时也能反映普通人群所生存的环境是否受到重金属污染, 为重金属中毒的诊断治疗提供参考数据<sup>[4]</sup>。电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)已被广泛应用于临床及生物样品分析中, 是近年来发展最快的无机元素痕量分析技术之一。它拥有多元素同时检测能力, 可达ppt级的检出限, 分析速度快, 线性范围比较宽, 能够满足生物样品中多种重金属元素检测的要求<sup>[4-6]</sup>。

临床多年实践发现, 尿液检查简单快速, 但检验结果的准确性受到多个环节、多种因素的影响。在标本采集、处理、贮存和运输等环节中样本均有可能受到影响。因此, 在检验分析尿液标本之前, 质量控制显得至关重要。<sup>[7-9]</sup>我们旨在建立一种快速、准确、实用的分析方法, 以满足大批量尿样中16种重金属元素同时检测的要求, 并建立严格的质量控制方法, 从而保证检测准确性。

## 1 实验部分:

### 1.1 仪器和试剂

NexION 2000型 ICP-MS, PerkinElmer; PURELAB flex型超纯水仪, ELGA; KQ 5200B型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 镍(Ni)、镓(Ga)、砷(As)、钯(Pd)、镉(Cd)、锡(Sn)、锑(Sb)、碲(Te)、铯(Cs)、钆(Gd)、钨(W)、铍(Be)、铂(Pt)、铊(Tl)、铅(Pb)、汞(Hg)、钪(Sc)、锗(Ge)、铟(In)、钇(Y)、铼(Re)各单元素的标准溶液(1000 μg/mL), 国家有色金属及电子材料分析测试中心; 硝酸, 电子纯, 安

谱; 曲拉通X100, SIGMA-ALDRICH; 15 mL及50 mL离心管, 泰坦。

### 1.2 仪器参数优化

使用PerkinElmer调谐液(含1 μg/L Be、Ce、Fe、In、Li、Mg、Pb、U), 调节仪器至最佳状态, 满足低质量数<sup>9</sup>Be>4500, 中质量数<sup>115</sup>In>80000、高质量数<sup>238</sup>U>60000, 氧化物比例<sup>156</sup>CeO<sup>+</sup> / <sup>140</sup>Ce<sup>+<</sup>0.025, 双电荷离子比例<sup>70</sup>Ce<sup>++</sup> / <sup>140</sup>Ce<sup>+<</sup>0.03。通过日常调谐优化后的仪器条件为: RF Power 射频功率1600 W; Plasma flow 等离子体流速15 mL/min; Auxiliary Argon flow 辅助气流速1.2 mL/min; Detector Mode 检测模式KED & Standard & DRC; Nebulizer pressure 雾化气体流速1 mL/min; He flow 氦气流速3.5 mL/min。

### 1.3 样本前处理及分析方法

#### 1.3.1 样本前处理方法

取50mL硝酸用超纯水定容至1000mL, 再加入200 μL的Au标液(1000 μg/mL)作为稀释剂。选取健康人群尿液混匀, 取0.5mL加入到15mL离心管中, 用稀释剂定容到10mL, 摇匀。同时用盛尿的容器装入等量的超纯水, 取0.5mL用稀释剂定容至10 mL作为方法空白。以稀释剂作为溶剂空白。

#### 1.3.2 标准曲线制备方法

内标储备液: 取Sc、Ge、In、Y、Re(1000 μg/mL)各2.5 μL, 用稀释剂定容至50mL, 作为内标储备液;

标准曲线的配制: 取各元素单标储备液(1000 μg/mL)适量, 用稀释剂配制成Ni: 0.1、0.5、5、8、10 ng/mL; Hg、W、Gd、Te、Sb、Cd、Be、Ga、Pt、Tl: 0.01、0.05、0.5、0.8、1 ng/mL; As、Pb、Cs、Sn: 0.01、0.05、0.5、

1、5 ng/mL; Pd: 0.1、0.5、5、10、50 ng/mL的标准工作曲线。

1.3.3 质量控制

采用尿液样本加标回收实验，并进行批内及批间重复测试，以验证方法的准确度及精密度。

2 结果与讨论

2.1 样本前处理

我们在日常试验中发现，样本可以用曲拉通-硝酸体系进行直接稀释分析，并且稀释的倍数越高，该方法可达到的定量限越低，相比于消解的方法，可节约前处理的成本，并且引入的杂质含量也大幅降低。本文选择用5%的硝酸（含200ppb Au，解决Pb的吸附问题）作为稀释剂，将样本直接稀释后上机，但缺点是容易对仪器造成污染，需要对仪器进行定期维护。

2.2 干扰的消除和内标的选择

ICP-MS实际检测过程中通常容易引入两种干扰——质谱干扰和非质谱干扰，这是因为样本中存在高盐分、高有机物、高含量共存元素。比如，多原子离子，由等离子体气或者雾化气、溶剂或样本溶液中的基体组分、样本中的其他元素、从环境中引入的氧气和氮气等，通常包括ArCl、ArC、

Ar<sub>2</sub>、CaO、ArH、CaOH，容易对质荷比（m/z）<84的元素产生干扰。

目前主要有两种消除干扰的技术——动能甄别（KED）和质量甄别（DRC）：在碰撞/反应池中分析物与碰撞/反应气经过大量的离子-分子碰撞和反应后，可将多原子离子干扰转变成非干扰离子，或者目标元素转变为另一种离子间接进行测试；另一方面碰撞/反应池中还会发生一些复杂的二次碰撞和反应，生成新的干扰离子。所以为了消除不同离子的干扰，可使用两种干扰模式结合使用。干扰模式的选择方面，当干扰/目标离子强度<1的时候选择使用校正公式，当干扰/目标离子<100的时候选择KED模式，当干扰严重的时候可选择DRC模式（通常可消除10<sup>7</sup>以上的干扰）。结合试验结果：Be、Pt、Tl、Hg、Pb选择标准模式，Ni、W、Gd、Te、Sb、Cd、Cs、Sn、Pd、As选择氦气KED模式，流速为3.5 mL/min，Ga选择氦气DRC模式，流速为0.6 mL/min。

内标在ICP-MS检测中主要用来校正基质效应和信号漂移，所以内标的选择一般遵循以下原则：1）样本中不含内标元素；2）环境容易污染的元素不能作为内标；3）内标与待分析元素质量数接近；4）内标与目标元素具有相近的电离能。根据目前所报道的常用内标元素，Be、Pt、Tl、Hg、

表1 方法线性与检出限、定量限

元素	线性范围	线性相关系数	斜率	截距	检出限3σ	定量限10σ	单位
镍-Ni	0.1-10	1.000	0.068	0	0.0718	0.5727	ng/mL
镓-Ga	0.01-1	0.9972	0.218	0	0.0080	0.0268	ng/mL
砷-As	0.01-50	0.9999	0.027	0	0.0589	0.1964	ng/mL
钯-Pd	0.1-50	1.0000	0.029	0	0.0259	0.0862	ng/mL
镉-Cd	0.01-1	0.9999	0.008	0	0.1398	0.4660	ng/mL
锡-Sn	0.01-5	1.0000	0.021	0	0.2236	0.7452	ng/mL
锑-Sb	0.01-1	1.0000	0.02	0	0.0045	0.0150	ng/mL
碲-Te	0.01-1	0.9999	0.004	0	0.0788	0.2626	ng/mL
铯-Cs	0.01-5	1.0000	0.073	0	0.0036	0.0121	ng/mL
钆-Gd	0.01-1	1.0000	0.036	0	0.0011	0.0035	ng/mL
钨-W	0.01-1	1.0000	0.035	0	0.0158	0.0525	ng/mL
铍-Be	0.01-1	1.0000	0.009	0	0.0047	0.0157	ng/mL
铂-Pt	0.01-1	0.9999	0.02	0	0.0057	0.0191	ng/mL
铊-Tl	0.01-1	0.9999	0.084	0	0.0010	0.0035	ng/mL
铅-Pb	0.01-5	0.9999	0.06	0	0.0090	0.0301	ng/mL
汞-Hg	0.01-1	0.9999	0.008	0	0.0249	0.0831	ng/mL

表2 批内精密度 (n=6)

元素	低值			中值			高值			单位
	均值	平均回收率	相对标准偏差	均值	平均回收率	相对标准偏差	均值	平均回收率	相对标准偏差	
镍-Ni	0.723	113%	3.9%	20.173	90%	4.4%	40.551	91%	3.0%	ng/mL
镓-Ga	1.134	110%	3.5%	40.938	101%	0.9%	83.065	102%	0.9%	ng/mL
砷-As	39.10	104%	1.5%	117.547	101%	5.3%	196.797	98%	2.5%	ng/mL
钯-Pd	9.084	88%	11.1%	93.68	86%	0.4%	493.091	96%	1.5%	ng/mL
镉-Cd	0.550	98%	2.1%	5.632	91%	5.6%	12.095	95%	2.9%	ng/mL
锡-Sn	2.507	86%	2.9%	7.576	101%	3.4%	13.903	99%	3.6%	ng/mL
锑-Sb	1.380	102%	3.2%	2.780	98%	4.6%	5.372	96%	3.2%	ng/mL
碲-Te	0.483	90%	13.1%	0.679	102%	6.6%	1.463	101%	8.6%	ng/mL
铯-Cs	6.203	101%	3.4%	31.491	102%	5.2%	59.359	99%	2.7%	ng/mL
钆-Gd	0.929	95%	3.9%	0.935	87%	4.4%	1.912	95%	3.2%	ng/mL
钨-W	1.565	101%	8.8%	4.891	92%	5.2%	9.611	95%	5.6%	ng/mL
铍-Be	0.851	90%	4.8%	0.800	93%	3.6%	1.584	98%	3.0%	ng/mL
铂-Pt	0.776	99%	2.8%	0.859	90%	3.1%	1.750	95%	2.5%	ng/mL
铊-Tl	1.202	91%	2.0%	4.566	86%	3.1%	9.216	95%	1.9%	ng/mL
铅-Pb	0.547	105%	4.9%	43.392	90%	2.7%	89.737	98%	5.7%	ng/mL
汞-Hg	0.984	95%	5.6%	9.316	90%	3.6%	16.615	99%	3.0%	ng/mL

Pb、W、Gd以Re作为内标，Te、Sb、Cd、Cs、Sn、Pd、Ga以In为内标，Ni以Sc为内标，As以Ge为内标。除Be外（由于人体含有Li，所以Li不适合作为Be的内标），所有目标元素与内标元素都具有相近的质量数和电离能。

### 2.3 方法线性、检出限、定量限

使用调谐液优化仪器条件后，将配制好标准溶液及内标溶液以三通管相同泵速在线同步进样，以目标元素和内标的离子计数比值为纵坐标（y），以目标元素的浓度为横坐标（x），用最小二乘法拟合标准曲线（强制过零点），计算各元素的线性回归方程。同时以10次测定空白试验的相对标准偏差的3倍（ $3\sigma$ ）作为检出限，10倍（ $10\sigma$ ）作为定量限。各微量元素的线性相关系数均大于0.99，检出限为0.0010~0.2236 ng/mL。结果见表1。

### 2.4 方法的准确度和精密度

收集健康人群尿液，测试其本底值后加标，测试加标回收率、批内精密度（n=6）。各微量元素的加标回收率为86%~105%，批内精密度为0.4%~13.1%，准确度和精密度较好。结果见表2。

### 2.5 质量控制

#### 2.5.1 实验过程中的质量控制

由于16种元素在人体内的含量极低，所以实验过程中需要注意避免污染残留的情况。实验表明：离心管需用5%的硝酸浸泡至少12小时后再用超纯水清洗后残留可降至可接受水平（ $\ll$  LOQ）。样本上机检测过程需全程关闭门窗，保持稳定的温湿度环境。

为避免样本间交叉污染，运行标准工作溶液需从低到高浓度进样，单个样本在进样前进行预冲洗，设置蠕动泵转速为45rpm，时间为45s，每个样本重复测试3次取平均值，一旦出现残留情况，可用5%的硝酸进行冲洗，或者熄火维护雾化室、矩管及采样锥。

#### 2.5.2 实验结果的质量控制

ICP-MS测定人体尿液中重金属元素缺乏商业的质控品，为保证室内质控的正常运行，所以需要按照CNAS-GL05《实验室内部研制质量控制样品的指南》配制质控品。采集正常人群尿液作为质控品基质，测定16种元素的本底值，再根据各金属元素在人体内的参考范围，以参考范围下限（一般大于10%）作为质控低点，以参考范围上限作为质控高点。首先需测定尿液基质中各元素的本底值，然后进行加标、考察实际

表3 尿液本底值、质控均匀性及稳定性

元素	本底 (ng/mL)	均匀性 (n=6)	精密度 (低点)	精密度 (高点)
Ni	7.951	5.60%	14.10%	11.50%
Ga	ND	2.30%	7.80%	5.40%
As	45.651	4.50%	5.70%	5.80%
Pd	10.077	10.20%	14.70%	12.50%
Cd	0.994	2.50%	11.20%	5.60%
Sn	1.923	8.70%	13.50%	8.70%
Sb	ND	1.30%	5.60%	5.30%
Te	ND	0.90%	10.20%	6.70%
Cs	7.51	5.90%	8.70%	9.40%
Gd	ND	2.10%	7.90%	8.20%
W	ND	1.90%	9.10%	7.20%
Be	ND	1.20%	14.20%	14.80%
Pt	ND	0.80%	5.90%	5.60%
Tl	ND	0.70%	6.90%	12.40%
Pb	ND	6.80%	11.80%	13.90%
Hg	ND	9.80%	8.10%	6.50%

备注：ND=未检出

测定值；再进行质控分装、均匀性、稳定性考察：分装按照单个样本检测的取样量作为最小单元，这样可避免样本反复冻融，减少取样的操作。然后将分装的质控随机取6组（含高低点）进行上机测试，统计6组样本的测试偏差，以相对标准偏差小于15%为标准，通过则均匀性考察符合要求。以30天的日间精密度为稳定性考察，同样是以小于15%为标准，结果见表3。

### 3 结论

采用直接稀释ICP-MS方法测定人体尿液中16种重金属含量，结果表明：该方法线性相关系数均大于0.99，检出限0.0010~0.2236ng/ml，加标回收率86%~105%，批内精密度0.4%~13.1%；自制质控品均匀性RSD小于9.2%，日间精密度小于14.8%。该方法具有快捷、灵敏、准确的优点，适用于人体尿液中微量元素的检测，自制质控品均匀性和稳定性良好，适用于该方法的室内质控评价。

### 参考文献

[1] 钟燕妮. 重金属污染土壤的环境治理途径探讨[J]资源节约与环保[J]. 2021, (11): 47-9.

[2] 徐赐贤. 人体生物材料中重金属的ICP-MS分析方法研究 [D]; 中国疾病预防控制中心, 2013.

[3] 王小燕, 李玉峰, 李柏, et al. 稀释法快速测定人体血液和尿液中多种重金属元素 %J 分析试验室[J]. 2010, 29 (06): 41-5.

[4] 汤昌海, 李争云, 马微. ICP-MS法测定尿液中铅、镉、锰、镍和铬 %J 工业卫生与职业病[J]. 2016, 42 (05): 383-5+90.

[5] 汤昌海. ICP-MS法在测定尿液中镉的应用 %J 职业卫生与病伤[J]. 2016, 31 (06): 396-8.

[6] 李洁, 顾霞萍. ICP-MS法同时测定生物样品中5种元素 %J 中国卫生检验杂志[J]. 2015, 25 (20): 3445-7.

[7] 徐灼均, 隋洪, 陈慧, et al. 临床体液标本分析前质量控制 %J 检验医学与临床[J]. 2013, 10 (16): 2198-9.

[8] 王秋桐, 安跃震, 刑洁. 临床检验中心不合格标本分类统计及原因分析 %J 国际检验医学杂志[J]. 2014, 35 (21): 2945-6.

[9] 杨力. 临床尿液常规检验分析前质量控制对策与效果 %J 临床医药文献电子杂志[J]. 2019, 6 (59): 136.